



ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЭВОЛЮЦИИ ЭКОСИСТЕМ

УДК 575.858; 575.174.015.3; 57.087.1

© С. В. Мыльников¹,
С. В. Жиров²

¹ Санкт-Петербургский
государственный университет;
² Зоологический институт РАН,
Санкт-Петербург

СТАТИСТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ВОПРОСУ О ТАКСОНОМИЧЕСКОМ СТАТУСЕ И ЭВОЛЮЦИОННОМ ПОТЕНЦИАЛЕ КОМАРА-ЗВОНЦА *PRODIAMESA* *OLIVACEA* MEIGEN (1818) (DIPTERA, CHIRONOMIDAE, *PRODIAMESINAE*) НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА КАРИОТИПА

Памяти П. Я. Шварцмана

Проанализированы частоты контактов политенных хромосом центромерными и теломерными участками в кариотипе хирономиды *Prodiamesa olivacea*. Статистически подтверждена неслучайность групп контактов центромерными участками, соответствующих диплоидному числу хромосом, равному 10. Вид анонсирован как «переходная форма», эволюционирующая по пути уменьшения числа хромосом.

✿ **Ключевые слова:** *Prodiamesa olivacea*; политенные хромосомы; диплоидный набор хромосом; нерегулярные ассоциации хромосом; хромоцентр; метод хи-квадрат.

ВВЕДЕНИЕ

Развитие цитологических методов позволило ученым исследовать форму и число хромосом у многих видов животных и растений. Появилось новое направление — кариосистематика, которое внесло некоторые поправки и уточнения в построенную на основе морфологических критериев филогенетическую систему (White, 1973). В большинстве случаев число хромосом может служить характерной особенностью вида. Каждый вид характеризуется определенным кариотипом — числом и формой метафазных хромосом. У некоторых организмов для подобного анализа помимо делящихся подходят также интерфазные ядра благодаря политении — многократным удвоениям хромосом, не сопровождающимся клеточным делением. При этом гены в хромосоме выстраиваются линейно, в клетках в тысячи раз возрастает концентрация продуктов экспрессирующихся генов. Сами хромосомы приобретают характерную поперечную исчерченность, выявляемую рядом красителей, имеющих сродство к гетерохроматину. Рисунок исчерченности, обусловленный чередованием гетерохроматиновых темных и эухроматиновых светлых полос, так называемых «дисков» и «междисков», уникален для каждого вида (Кикнадзе, 1971).

Исследование кариотипической структуры отдельных видов двукрылых, имеющих в ряде органов личинок политенные хромосомы, позволяет решить некоторые проблемы, связанные с механизмами эволюционного преобразования генома. Основной причиной кариотипической дивергенции являются хромосомные мутации, среди которых заметную роль играют робертсоновские перестройки — реципрокные обмены участками хромосом (Robertson, 1916). Частным случаем таких перестроек являются реципрокные обмены целыми плечами и тандемные слияния теломерами, приводящие к изменению комбинаций плеч хромосом, а также числа хромосом и, соответственно, хромосомных плеч. В семействе Chironomidae обнаружено существование цитоккомплексов — групп близкородственных видов, появившихся в результате таких обменов (Keul, 1962). Виды, входящие в разные цитоккомплексы, различаются либо диплоидным числом хромосом, либо попарными комбинациями хромосомных плеч. В то же время у некоторых видов в соматических клетках слюнных желез возникают нерегулярные ассоциации хромосом терминальными районами, что затрудняет определение диплоидного числа хромосом, свойственного виду. Такие сложности обычны в тех случаях, когда трудно получить достоверную информацию при изучении клеток зародышевого пути. Например, у хирономид митотические и мейотические хромосомы из гонад и надглоточных ганглиев имеют малые размеры, и рутинный метод давленных препаратов, как правило, не даёт удовлетворительных результатов, которые не могут быть однозначно интерпретированы (Петрова, Чубарева, 1978).

Поступила в редакцию 15.12.2014
Принята к публикации 16.03.2015

Одним из таких «спорных» видов по сей день является *Prodiamesa olivacea* Meigen — вид комаров-звонцов, личинки которого предпочитают проточные чистые водоёмы с песчаным дном (псаммофилы). Вид внесён в кадастр индикаторных организмов и, следовательно, имеет важное практическое значение в исследованиях по экологии (Макрушин, 1974).

Кариотип *P. olivacea* характеризуется наличием нескольких пар крупных хромосом и пары микрохромосом, которые либо располагаются по отдельности, либо объединяются в хромоцентроподобную структуру, которая отличается от истинного хромоцентра способностью легко разрушаться при приготовлении давленных препаратов (Zacharias, 1979, 1981). Нерегулярные ассоциации хромосом теломерными участками явились основной помехой для точного определения диплоидного числа хромосом в клетках, например, слюнных желез (Бауер, 1936; Петрова, 1983, 1989). Высказывалось предположение, что в ходе сперматогенеза у этого вида обнаруживаются три бивалента, то есть $2n = 6$ (Бауер, Веетман, 1952). Захарияс, исследуя мейотические хромосомы в пахитене, также установил, что кариотип составляют 3 пары хромосом (Zacharias, 1979, 1980, 1981). Той же точки зрения придерживались и другие авторы, полагая, что наименьшая хромосома в кариотипе является непостоянным компонентом генома, то есть В-хромосомой, и $2n = 6 + V$ (Michailova, 1977; Куберская, 1979).

В то же время некоторые исследователи на основании результатов анализа гигантских хромосом определили диплоидное число хромосом $2n = 10$ (Бауер, 1936; Mainx et al., 1953; Петрова, Чубарева, 1978). Позже Бирман, Михайлова и Куберская скорректировали свои данные, указав для вида $2n = 10$ (Веетман, 1962; Куберская, 1980) и $2n = 8$ (Michailova, 1989). Наконец, для популяции из Горного Алтая число хромосом было определено как 6 (Керкис и др., 1996). Такие различия в интерпретации диплоидного числа хромосом в очередной раз объясняются возникновением нерегулярных ассоциаций хромосом и образованием хромоцентра, наличие которого в точке соединения хромосом затрудняет визуальный анализ.

В нашей работе сделана попытка решить вопрос о диплоидном числе хромосом у *P. olivacea*, используя только данные, полученные на соматических клетках, хромосомы из клеток гонад и ганглиев не анализировались. Для этого мы провели исследование закономерностей возникновения ассоциаций политенных хромосом, статистически оценивая случайность распределения частот разных вариантов ассоциаций методом хи-квадрат (Глотов и др., 1982).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал (личинки *P. olivacea* IV возраста) был собран в августе 1991 года в озере Елизаровском (Псковская область, Псковский район, пос. Елизарово) в прибрежной зоне драгой на глубине 0,5 м в районе стоков с болот. Личинки фиксировали по Кларку в спирто-уксусной смеси (3:1). Слюнные железы извлекали и тотально окрашивали 2%-м ацетоорсеином в течение получаса, после чего готовили давленные временные препараты в осмоленной 75%-й молочной кислоте, не повреждая клеточное ядро. Для этого препаративными иглами отделяли гигантские клетки от секрета, надрывали клеточные оболочки и удаляли студенистую цитоплазму. Давили через полоски фильтровальной бумаги, контролируя результат с помощью бинокля. Всего было изучено 1687 клеток из желез 34 особей. На препаратах подсчитывали ассоциации каждой хромосомы с другими хромосомами. Спорные случаи проверяли с помощью фазового контраста по наличию тяжёлой олиготенных волокон (степень политении до 100), которыми хромосомы соединяются при эктопической конъюгации. Плечи хромосом и их районы обозначали по Петровой и Чубаревой (1978). Центромеры и теломеры в настоящей работе мы обозначили соответственно как C_m и T_m .

Исходили из предположения, что хромосомы телоцентрические, то есть представляют собою одно плечо с теломерным и центромерным участками: I хромосома — I^{T_m} и I^{C_m} , II хромосома — II^{T_m} и II^{C_m} и т.д. (рис. 1). Задачей нашего исследования являлась проверка слу-

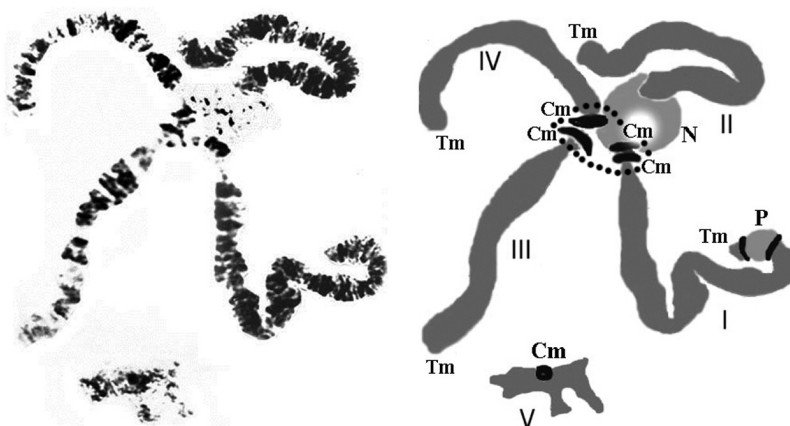


Рис. 1. Микрофотография и схематическое изображение ассоциаций хромосом I—IV пар в крестообразную фигуру у *Prodiamesa olivacea*. I, II, III, IV, V — пары хромосом, N — ядрышко, P — пuffed. Микрохромосома (V пара гомологов) расположена вне комплекса. Данный тип ассоциации — все центромеры (C_m) связаны в хромоцентр, все теломеры (T_m) лежат свободно — интерпретировался как шесть отдельных вариантов эктопической конъюгации: $I^{C_m}-II^{C_m}$, $I^{C_m}-III^{C_m}$, $I^{C_m}-IV^{C_m}$, $II^{C_m}-III^{C_m}$, $II^{C_m}-IV^{C_m}$, $III^{C_m}-IV^{C_m}$. Светло-серым цветом обозначена область активности ядрышка, пунктиром — границы псевдохромоцентра

чайности распределения различных вариантов ассоциаций хромосом и выявление закономерностей в их образовании всех в совокупности, а также, в частных случаях, внутри разных классов ассоциаций.

Нулевая гипотеза о случайности распределения ассоциаций базировалась на следующих тезисах:

- а) диплоидное число хромосом *P. olivacea* $2n = 10$;
- б) все хромосомы телоцентрические;
- в) пары хромосом теломерами и центромерами ассоциируют случайно.

Исходные положения гипотезы соответствовали точке зрения Петровой и Чубаревой (1978).

Для упрощения обработки результатов каждый вариант попарного взаимодействия типа $Tm-Tm$, $Cm-Cm$ и $Tm-Cm$ учитывали отдельно, независимо от того, ассоциирует ли данная пара одновременно с другими хромосомами. Подсчёт вели методом «конверта», занося данные непосредственно в итоговую таблицу, сразу же суммируя их. Полученные данные обрабатывали по методу хи-квадрат (Глотов и др., 1982).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе нашего исследования мы встретили варианты ассоциаций хромосом по две и более, вплоть до случаев, когда все компоненты генома участвовали в ассоциациях. Всего было отмечено 36 вариантов объединения. В некоторых случаях эктопическая конъюгация была настолько плотной, что разные компоненты кариотипа казались единым целым — центромеры объединялись в хромосомоподобную структуру (рис. 1). Хромосомы III и IV пар на препаратах выглядели как одна надломленная в прицентромерном районе хромосома.

Когда тесный контакт отсутствовал, можно было наблюдать тяжи олиготенных волокон, посредством которых взаимодействовали две и более хромосом. Это явление известно как эктопическая конъюгация. Нами учитывался каждый случай объединения. Наиболее часто (81,9 %) встречались фигуры типа «креста», когда

взаимодействовали все крупные хромосомы кариотипа, а микрохромосома лежала отдельно.

В ряде случаев можно было встретить микрохромосомы, ассоциирующие с центромерными и теломерными районами больших хромосом. Встречались крупные хромосомы, лежащие отдельно в кариоплазме или ассоциирующие в редких комбинациях, например, по типу теломера—теломера ($Tm-Tm$).

Проверка случайности распределения вариантов по методу хи-квадрат показала, что частоты соединения хромосом центромерными районами были достоверно больше, чем это возможно при случайном распределении. Первоначальную цель исследования пришлось разделить на ряд задач, разбив все варианты ассоциаций на несколько групп:

- а) ассоциации I—IV хромосом центромерами;
- б) ассоциации I—IV хромосом, не связанные с образованием хромосомоподобной структуры;
- в) ассоциации микрохромосомы с центромерными районами I—IV хромосом;
- г) ассоциации микрохромосом с теломерными районами I—IV хромосом;
- д) свободнолежащие хромосомы.

Результаты подсчета приведены в таблице 1.

Для каждой группы проверяли случайность распределения вариантов.

Исследование распределения вариантов ассоциаций больших хромосом центромерами с образованием крестообразных фигур методом хи-квадрат показало, что эмпирические частоты объединения различных хромосом по типу $Cm-Cm$ отличаются от теоретических недостоверно. Следовательно, 4 пары больших хромосом представляют собой самостоятельные автономные единицы.

Другие варианты взаимодействия 4 пар больших хромосом по типам $Tm-Tm$ и $Tm-Cm$, согласно результатов исследования, также распределяются случайно, причём подобные ассоциации встречаются приблизительно на два порядка реже, чем тип $Cm-Cm$. Предположительно, это обусловлено различной степенью гомо-

Таблица 1

Распределение вариантов эктопической конъюгации политенных хромосом *P. olivacea* центромерными и теломерными районами в клетках слюнных желёз (св. — свободнолежащие хромосомы)

	Контактирующие районы хромосом								св.
	I ^{Cm}	II Tm	II ^{Cm}	III Tm	III ^{Cm}	IV Tm	IV ^{Cm}	V ^{Cm}	
I Tm	15	14	22	12	20	7	20	24	78
I ^{Cm}		14	1441	16	1478	14	1470	281	
II Tm			13	11	18	11	19	36	89
II ^{Cm}				22	1400	17	1438	367	
III Tm					14	13	13	20	57
III ^{Cm}						12	1508	280	
IV Tm							12	21	57
IV ^{Cm}								277	
V ^{Cm}									1175

логии хроматина в центромерных и теломерных районах хромосом

Микрохромосома предпочтительно ассоциировалась с центромерными районами хромосом I–IV, чем с теломерными. На основании этих данных также можно предполагать, что гетерохроматин микрохромосом и гетерохроматин центромерных районов I–IV хромосом характеризуются значительной гомологией, обусловленной локализацией в этих локусах некодирующих высокоповторяющихся последовательностей. В то же время сходство гетерохроматина микрохромосом и прителомерного гетерохроматина I–IV хромосом намного ниже.

Частота свободнолежащих микрохромосом также была высока — в 69,9% клеток они не были связаны с другими элементами кариотипа. Следовательно, микрохромосомы можно считать самостоятельным компонентом генома.

Ассоциации микрохромосом с центромерами больших хромосом также носят неслучайный характер. Причиной этому явились часто встречающиеся ассоциации микрохромосом с несущей ядрышко II хромосомой (30,5% вместо ожидаемых 25). Этот факт позволяет предполагать значительное структурное сходство гетерохроматина микрохромосом и ядрышкообразующего материала. Причём зона ядрышка проявляет большее сродство к микрохромосоме, чем центромерные районы макрохромосом.

Распределение вариантов ассоциаций микрохромосом с теломерами остальных хромосом можно рассматривать как случайное.

Наконец, по результатам статистического анализа, микрохромосомы достоверно реже участвуют в ассоциациях, чем хромосомы I–IV пары. Частоты встречаемости свободнолежащих макрохромосом также не соответствовали частотам при случайном распределении. Подобная неслучайность была обусловлена в основном ассоциациями ядрышконесущей II хромосомы. Не исключено, что наличие ядрышкового организатора придаёт хромосомам II пары определённую поведенческую и архитектурную самостоятельность в геноме.

Возникающие ассоциации хромосом в геноме *P. olivacea* — видоспецифический признак, следовательно, наследственно детерминированный — способность хромосом к эктопической конъюгации передаётся из поколения в поколение. Однако степень выраженности признака варьирует от клетки к клетке, и у разных особей, то есть характеризуется экспрессивностью и пенетрантностью. Особенности проявления этого признака, возможно, обусловлены спецификой онтогенеза соматических клеток. Вряд ли локализация точек эктопирования запрограммирована генетически. Мы считаем, что в данном случае следует рассматривать совокупность клеток слюнных желёз как популяцию независимых организмов. Если интерпретировать наблюдаемые в онтогенезе

явления как отражение филогенеза, возникает вопрос: в каком направлении происходит эволюция кариотипа — к константным ассоциациям, слияниям центромер и образованию мета- и субметацентрических хромосом, или к увеличению диплоидного числа хромосом?

В подсемействе Prodiamesinae известны виды с $2n = 12$ или $2n = 8$ как у *P. branickii* (Куберская, 1979, 1980), а также $2n = 6$ или $2n = 6 + B$, как у *P. bureschi* (Michailova, 1977, 1985, 1989). У родов, близких к Prodiamesa — Protanypus, Syndiamesa, Pseudodiamesa диплоидное число колеблется от $2n = 8$ до $2n = 14$. Несогласованность в трактовке диплоидного набора хромосом не позволяет выявить какую-либо закономерность, направление в эволюции кариотипов данной группы. Хромоцентроподобные ассоциации могут быть предшественниками и стимулом последующих центрических слияний, либо следствием разделения хромосом в эволюционном прошлом по механизму реципрокных транслокаций (White, 1973). Данных по этому подсемейству недостаточно, они слишком противоречивы, чтобы на их основе делать попытки реконструкции предковых форм или прогнозировать структуру кариотипов эволюционно новых форм, которым могут дать начало ныне живущие виды. Однако вероятность этих путей эволюции кариотипа неодинакова.

У хириноид наблюдается тенденция к сокращению числа групп сцепления (Keyl, 1962; Martin et al., 1974). У эволюционно молодых видов из подсемейства Chironominae диплоидные числа хромосом, как правило, меньше, чем у более древних — Prodiamesinae и Tanypodinae, в кариотипах хириноид больше мета- и субметацентриков, но реже наблюдаются эктопические контакты (Жимулёв, 1993). Следовательно, преобразования кариотипов, связанные с центрическими слияниями, в подсемействе Prodiamesinae более вероятны.

Хромосомы I–IV пар равноправны в организации хромоцентра, что свидетельствует о значительной степени гомологии прицентромерных районов, обусловленной большим количеством высокоповторяющихся некодирующих последовательностей, формирующих гетерохроматин. Тогда как гомология прителомерных районов должна быть значительно ниже, но достаточна для редких случаев ассоциаций. Естественно ожидать, что в прителомерных областях хромосом таких повторов меньше. Микрохромосомы определённо тяготеют к хромоцентру, что может объясняться их преимущественно гетерохроматиновой природой (Zacharias, 1979). Однако частота их объединения с хромоцентром намного ниже, чем у больших телоцентрических хромосом. Возможно, в ходе кариотипической дивергенции микрохромосомы в значительной степени утратили гомологию в структуре гетерохроматиновых районов, ответственных за образование ассоциаций. Кроме того, микрохромосомы активнее связываются с районом ядрышкового организатора IV хромосомы, чем с другими участками. Воз-

можно, ядрышкообразующий хроматин в значительной мере сходен по структуре с хроматином микрохромосом. В большинстве же клеток микрохромосомы существуют как самостоятельные единицы, не связанные с другими элементами генома. Микрохромосомы могут закрепляться в кариотипе, эволюционируя от В-хромосом как нерегулярных компонентов генома, вследствие дивергентной эволюции на молекулярном уровне.

Кроме того, полученные нами данные свидетельствуют об определённой избирательности, с которой различные хромосомы вступают во взаимодействие друг с другом. Так, пара ядрышконесущих хромосом чаще встречается вне ассоциатов, реже всего участвует в образовании хромосомы, но чаще взаимодействует с микрохромосомами.

Таким образом, можно предполагать наличие целого ряда тенденций, на основе которых может происходить дальнейшая эволюция кариотипа данного вида:

- а) по нашим данным, диплоидный набор *P. olivacea* $2n = 10$, и не исключена возможность сокращения диплоидного числа хромосом в ближайшее эволюционное время;
- б) возможность центрических слияний хромосом I—IV пар равновероятная, с образованием метacentрических хромосом;
- в) слияние теломерными районами хромосом в ходе эволюции кариотипа маловероятно;
- г) возможны перестройки, связанные с переносом генетического материала между микрохромосомами и длинными хромосомами, в особенности IV пары;
- д) в эволюционном будущем возможно слияние III и IV пар гомологов с образованием метacentрической хромосомы, как это нередко наблюдается в подсемействе Chironominae, судя по высокой частоте ассоциаций их центромерными районами, однако статистически подтвердить эту тенденцию не представляется возможным.

Как уже упоминалось выше, развитие особей этого вида от яйца до куколки проходит в олиготрофных водоёмах, зачастую в проточной воде или в местах выхода на поверхность подземных вод на слабозаиленных участках дна при температурах, относительно более низких, чем в среднем по водоёму. В донных сообществах *P. olivacea* сосуществует, как правило, с представителями подсемейства Orthoclaadiinae, в частности, родов *Orthocladius*, *Cricotopus* и *Diamesa*. Все они характеризуются приверженностью к местообитаниям, почти не испытывающим антропогенного давления. В то же время в эвтрофных водоёмах, где в сообществах доминируют личинки из подсемейств Chironominae и Tanypodinae, особенно если данные местообитания в той или иной мере подвергаются антропогенному влиянию, этот вид обнаруживается крайне редко. С экологической точки зрения он является классическим стенобионтом. Таким образом, *P. olivacea* может служить модельным видом,

на котором можно проследить эволюционные процессы, затрагивающие кариотип, без учета адаптивной реакции, допуская, что антропогенное загрязнение окружающей среды минимально. Естественно, что термин «проследить» употреблён нами формально, с учетом того, что неопровержимые доказательства эволюции кариотипа макробионтов можно получить только в ходе мониторинга за эволюционно значимое время.

Исходя из вышесказанного, для *P. olivacea* вполне применим статус дарвиновской «переходной формы», у которой уже просматриваются возможные пути дальнейшей эволюции кариотипа. Видимо, под тем, что в настоящий момент называется видом *P. olivacea*, незаметно эволюционирует некоторая совокупность популяций с промежуточными чертами между усреднённым кариотипическим фенотипом «хорошего вида» — родоначальника и фенотипом будущего вида. Можно ли в этом случае считать исследуемый вид «хорошим»? Возможно, к определению линнеевских видов для отделения их от переходных форм следует добавить ещё одну черту: «хорошим видом может считаться ныне существующий вид с неопределёнными, равновероятными тенденциями дальнейшей эволюции». Однако это уточнение сильно сокращает время существования линнеевских видов в пользу переходных форм, а также число известных к настоящему времени «хороших видов». Процесс дарвиновского видообразования может предполагаться исследователем, но непосредственно наблюдению не поддаётся вследствие большой протяжённости во времени. Поэтому разрешение подобных вопросов — предмет будущих дискуссий, когда теория будет в достаточной степени подкреплена фактическим материалом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глотов Н. В., Животовский Л. А., Хованов И. В., Хромов-Борисов Н. Н. (1982) Биометрия. Л.: Изд-во ЛГУ. 263 с.
2. Жимулев И. Ф. (1993) Гетерохроматин и эффект положения гена. Новосибирск: Наука. 491 с.
3. Керкис И. Е., Гордадзе П. Р., Петрова Н. А., Чубарева Л. А. (1996) Еще раз о кариотипе комара-звонца *Prodiamesa olivacea*. Цитология. Т. 38 (3): С. 384—389.
4. Кикнадзе И. И. (1971) Политенные хромосомы как модель интерфазной хромосомы. Цитология. Т. 13 (1): С. 716—732.
5. Куберская Е. Ф. (1979) Кариотипическая характеристика массовых видов подсемейства Diamesinae (Diptera, Chironomidae) Прибайкалья. Кариосистематика беспозвоночных животных. Л.: Изд. Зоол. инст. АН СССР; С. 47—50.
6. Куберская Е. Ф. (1980) Морфология слюнных желез и кариотипическая характеристика Diamesinae (Diptera, Chironomidae) массовых видов бентоса

- водоемов и водотоков Прибайкалья. Автореф. дис... канд. биол. наук. Иркутск. 23 с.
7. Макрушин А. В. (1974) Биологический анализ качества вод. Л.: Наука. 59 с.
 8. Петрова Н. А. (1983) Кариотип и неустойчивые ассоциации политенных хромосом *Sindiamesa nivosa* (Diptera, Chironomidae). Зоол. журн. Т. LXII (1): С. 69–74.
 9. Петрова Н. А. (1989) Характеристика кариотипов хирономид (Diptera, Chironomidae) мировой фауны. I. Подсемейства Telmatogetoninae, Podonominae, Tanypodinae, Diamesinae, Prodiamesinae и Orthoclaadiinae. Энтомологическое обозрение. Т. 68 (1): С. 107–120.
 10. Петрова Н. А., Чубарева Л. А. (1978) Особенности кариотипа хирономиды *Prodiamesa olivacea* Meig. (Diptera, Chironomidae, Orthoclaadiinae). Цитология. Т. 20 (10): С. 1208–1211.
 11. Bauer H. (1936) Beitrage zur vergleichende Morphologie der Speichel-drusen-chromosomen. Abt. Allg. Zool. Physiol. Bd. 56: S. 239–276.
 12. Bauer H., Beerman W. (1952) Der chromosomencyclus der Orthoclaadiinae (Nematocera, Diptera). Z. Naturforschung. Bd. 76 (9–1): S. 557–563.
 13. Beerman W. (1962) Riesenchromosomen. Protoplas-mologia GD, Wien: Springer. Bd. 6. 162 s.
 14. Keyl H. G. (1962) Chromosomenevolution bei Chironomus. II. Chromosomenumbauten und phylogenetische Beziehungen der Arten. Chromosoma. Bd. 13. S. 464–514.
 15. Mainx F., Kunze E., Koske Th. (1953) Cytologische untersuchungen an Lunzer Chironomidaen. Oesterreich. Zoolog. Zeitschrift. Bd. 4 (1/2): S. 33–44.
 16. Martin J., Wulker W., Sublette J. E. (1974) Evolutionary cytology in the genus Chironomus Meig. Stud. Nat. Sci. V. 1 (10–12): P. 1–12.
 17. Michailova P. (1977) Karyotaxonomische Charakteristik der *Prodiamesa olivacea* Meig. und *Prodiamesa bur-eschi* sp. N. (Diptera, Chironomidae). Zool. Beitrage. Bd. 23: S. 387–404.
 18. Michailova P. (1985) Tendencies in the karyotype evolution of species of the family Chironomidae (Diptera). Acta Zool. Bulg. V. 26: P. 3–22.
 19. Michailova P. (1989) The polythene chromosomes and their significance to the systematics and phylogeny of the family Chironomidae, Diptera. Acta Zool. Fennica. V. 186: P. 107.
 20. White M. J. D. (1973) Animal cytology and evolution. 3rd ed. Cambridge University Press. 961 p.
 21. Robertson W. R. B. (1916) Chromosome studies. I. Taxonomic relationships shown in the chromosomes of “Tettigidae” and “Acrididae”. V-shaped chromosomes and their significance in “Acrididae, Locustidae “and” Gryllidae: chromosome and variation.” J. Morph. V. 27: P. 179–331.
 22. Zacharias H. (1979) Underreplication of a Polytene chromosome arm in the Chironomid *Prodiamesa olivacea*. Chromosoma. V. 72 (1): P. 23–51.
 23. Zacharias H. (1980) Sex-linked underreplication of a chironomid chromosome. Europ. J. Cell. Biol. V. 22(1): P. 104.
 24. Zacharias H. (1981) Sex-linked Difference in DNA content of a polytene chromosome in *Prodiamesa* (Chironomidae). Chromosoma. V. 82: P. 657–672.

STATISTICAL APPROACH TO THE PROBLEM OF THE TAXONOMIC STATUS AND EVOLUTIONARY POTENTIAL OF A NON-BITING MIDGE *PRODIAMESA OLIVACEA* MEIGEN (1818) (DIPTERA, CHIRONOMIDAE, PRODIAMESINAE) BASED ON KARYOTYPE ANALYSIS

Mylnikov S. V., Zhirov S. V.

☼ **SUMMARY:** The frequency of contacts of centromere and telomere regions of polytene chromosomes in the karyotype of a midge *Prodiamesa olivacea* has been analyzed. The fact of non-random frequency of centromere regions contacts has been confirmed by statistical methods. These data are consistent with the diploid number of chromosomes equal to 10. The species has been announced as a “transitional form”, evolving towards reduction of the chromosome number.

☼ **KEY WORDS:** *Prodiamesa olivacea*; polytene chromosomes; diploid number of chromosomes; the irregular chromosome associations; chromocenter; Chi-squared test.

☼ **REFERENCES (TRANSLITERATED)**

1. Bauer H. (1936) Beitrage zur vergleichende Morphologie der Speichel-drusen-chromosomen. Abt. Allg. Zool. Physiol. Bd. 56: S. 239–276.
2. Bauer H., Beerman W. (1952) Der chromosomencyclus der Orthoclaadiinae (Nematocera, Diptera). Z. Naturforschung. Bd. 76 (9–1): S. 557–563.
3. Beerman W. (1962) Riesenchromosomen. Protoplas-mologia GD, Wien: Springer. Bd. 6. 162 s.
4. Glotov N. V., Zhivotovskij L. A., Hovanov I. V., Hromov-Borisov N. N. (1982) Biometriya [Biometrics]. L.: Izdvo LGU. 263 s.
5. Kerkis I. E., Gordadze P. R., Petrova N. A., Chubareva L. A. (1996) Eshhe raz o kariotipe komara-zvonca *Prodiamesa olivacea* [Once again about the karyotype of the midge *Prodiamesa olivacea*]. Citologiya. V. 38 (3): P. 384–389.
6. Keyl H. G. (1962) Chromosomenevolution bei Chironomus. II. Chromosomenumbauten und phylogenetische Beziehungen der Arten. Chromosoma. Bd. 13. S. 464–514.
7. Kiknadze, I. I. (1971) Politennyje hromosomy kak model interfaznoj hromosomy. [Polytene chromosomes as a model for interphase chromosomes]. Citologiya. V. 13 (1): P. 716–732.
8. Kuberskaya E. F. (1979) Kariotipicheskaya harakteristika massovyh vidov podsemejstva Diamesinae (Dip-

- tera, Chironomidae) Pribajkalya. Kariosistematika bespozvonochnyh zhivotnyh [Kariotipical characteristic of mass species of a subfamily Diamesinae (Diptera, Chironomidae) of Baikal region]. L.: Izd. zool. inst. AN SSSR: P. 47–50.
9. Kuberskaya E. F. (1980) Morfologiya slyunnyh zhelez i kariotipicheskaya harakteristika Diamesinae (Diptera, Chironomidae) massovyh vidov bentosa vodoev i vodotokov Pribajkalya [Morphology of salivary glands and kariotipical characteristic of Diamesinae (Diptera, Chironomidae) mass species of a benthos of reservoirs and current waters of Baikal region]. Avtoref. dis... kand. biol. nauk, Irkutsk, 23 s.
 10. Mainx F., Kunze E., Koske Th. (1953) Cytologische untersuchungen an Lunzer Chironomidaen. Oesterreich. Zoolog. Zeitschrift. Bd. 4 (1/2): S. 33–44.
 11. Makrushin A. V. (1974) Biologicheskij analiz kachestva vod [Biological analysis of quality of waters]. L.: Nauka. 59 s.
 12. Martin J., Wulker W., Sublette J. E. (1974) Evolutionary cytology in the genus Chironomus Meig. Stud. Nat. Sci. V. 1 (10–12): P. 1–12.
 13. Michailova P. (1977) Karyotaxonomische Charakteristik der Prodiamesa olivacea Meig. und Prodiamesa bureschi sp. N. (Diptera, Chironomidae). Zool. Beitrage. Bd. 23. S. 387–404.
 14. Michailova P. (1985) Tendencies in the karyotype evolution of species of the family Chironomidae (Diptera). Acta Zool. Bulg. V. 26: P. 3–22.
 15. Michailova P. (1989) The polytene chromosomes and their significance to the systematics and phylogeny of the family Chironomidae, Diptera. Acta Zool. Fennica. V. 186: P. 107.
 16. Petrova N. A. (1983) Kariotip i neustojchivye asociacii politennyh hromosom Sindiamesa nivosa (Diptera, Chironomidae) [Karyotype and unstable associations of polytene chromosomes of Sindiamesa nivosa (Diptera, Chironomidae)]. Zool. zhurn. V. LXII (1): P. 69–74.
 17. Petrova N. A. (1989) Harakteristika kariotipov hironomid (Diptera, Chironomidae) mirovoj fauny. I. Podsemejstva Telmatogetoninae, Podonominae, Tanypodinae, Diamesinae, Prodiamesinae i Orthocladiinae [Characteristics of karyotypes of non-biting midges (Diptera, Chironomidae) of the world fauna. I. Subfamilies of Telmatogetoninae, Podonominae, Tanypodinae, Diamesinae, Prodiamesinae and Orthocladiinae]. Entomologicheskoe obozrenie, V. 68 (1): P. 107–120.
 18. Petrova N. A., Chubareva L. A. (1978) Osobennosti kariotipa hironomidy Prodiamesa olivacea Meig. (Diptera, Chironomidae, Orthocladiinae) [Features of a karyotype of non-biting midge Prodiamesa olivacea Meig. (Diptera, Chironomidae, Orthocladiinae)]. Citologiya. V. 20 (10): P. 1208–1211.
 19. Robertson W. R. B. (1916) Chromosome studies. I. Taxonomic relationships shown in the chromosomes of «Tettigidae» and «Acrididae». V-shaped chromosomes and their significance in «Acrididae, Locustidae» and «Gryllidae: chromosome and variation.» J. Morph. V. 27: P. 179–331.
 20. White M. J. D. (1973) Animal cytology and evolution. 3rd ed. Cambridge University Press. 961 p.
 21. Zacharias H. (1979) Underreplication of a Polytene chromosome arm in the Chironomid Prodiamesa olivacea. Chromosoma. V. 72 (1): P. 23–51.
 22. Zacharias H. (1980) Sex-linked underreplication of a chironomid chromosome. Europ. J. Cell. Biol. V. 22 (1): P. 104.
 23. Zacharias H. (1981) Sex-linked Difference in DNA content of a polytene chromosome in Prodiamesa (Chironomidae). Chromosoma. V. 82: P. 657–672.
 24. Zhimulev I. F. (1993) Geterohromatin i effekt polozeniya gena. Novosibirsk [Heterochromatin and gene position effect]. Nauka. 491 s.

✪ Информация об авторах

Мыльников Сергей Владимирович — биологический факультет, кафедра генетики и биотехнологии. СПбГУ. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: S.mylnikov@spbu.ru.

Mylnikov Sergey — school of biology, Department of Genetics and Biotechnology, St. Petersburg State University. 199034, Saint Petersburg, Universitetskaya nab., 7/9, Russia. E-mail: S.mylnikov@spbu.ru.

Жиров Сергей Витальевич — отделение кариосистематики. Зоологический институт РАН. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 1. E-mail: svzhiroff@mail.ru.

Zhirov Sergey — department of karyosystematics. Zoological Institute RAS. 199034, Saint Petersburg, Universitetskaya nab., 1, Russia. E-mail: svzhiroff@mail.ru.